Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 3, Fall 2023, p. 801-819

Post-harvest Application of Hot Water, Calcium Chloride and Calcium Nano-Chelate Fertilizer on Amelioration of Chilling Injury and Extending the Shelf Life of Sweet Orange

M. Rahemi[1*], M.H. Nazaran[2], S. Abolghasemi[3], S. Sedaghat[4], M. Zare[5]

Received: 21-11-2022 Revised: 15-01-2023 Accepted: 16-01-2023 Available Online: 16-01-2023	**How to cite this article:** Rahemi, M., Nazarán, M.H., Abolghasemi, S., Sedaghat, S., & Zare, M. (2023). Post-harvest application of hot water, calcium chloride and calcium nano-chelate fertilizer on amelioration of chilling injury and extending the shelf life of sweet orange. *Journal of Horticultural Science*, *37*(3), 801-819. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2023.79650.1209

Introduction

Low temperature storage is the most important method used to preserve harvested products. Keeping products at low temperatures, above the freezing point up to 10 degrees Celsius, can cause frost damage in fruits and vegetables, especially tropical and subtropical products. The use of heat treatments as safe, organic and alternative physical methods is increasing, these treatments are used to maintain the quality after harvesting and also to prevent frostbite of garden products. Also, one of the recommended methods to reduce fruit waste is to increase the calcium concentration of the fruit by using calcium solutions. Calcium is one of the most important mineral elements that is involved in determining the quality of the fruit and its shelf life. Studies conducted on the use of nano fertilizers in some species of fruit trees has shown their potential role in improving the yield of the product and the physical and chemical properties of the fruitThis study was conducted to investigate the effect of postharvest treatments of calcium chloride and nano chelated calcium fertilizers on chilling injury and physiological characteristics of local orange fruits stored at 2 ±0.5° C and 85% relative humidity for 60 to 120 days.

Materials and Methods

In this research, orange fruits of the local cultivar Citrus sinensis at the stage of commercial maturity based on the taste index (10TSS/TA≃) were prepared from Darab city of Fars province and transferred to the Physiology Laboratory of Horticultural Sciences Department of Shiraz University. Then the fruits were disinfected with 2% sodium hypochlorite and washed with distilled water. Treatments included calcium chloride and nano chelated calcium fertilizers at different concentrations of zero, 3 and 6 dissolved in cold water (20°C) and hot water at 45 °C for 25 and 15 min, respectively. Sampling was done on days 60 and 120. To simulate shelf life conditions, before measuring the parameters, the fruits were kept at laboratory temperature for two days. In this research, the changes in fruit tissue firmness, freezing index, weight loss percentage, soluble solids, total acidity, ascorbic acid, ion leakage, potassium ion leakage, malondialdehyde, calcium content of fruit skin and flesh, fruit color, catalase enzymes and peroxidase were measured. Data analysis was done using SAS software version 4.9 and comparison of averages was done by LSD test at 5% probability level.

Results and Discussion

1, 4 and 5- Professor and Ph.D. Student in Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, respectively.
(*- Corresponding Author Email: rahemi@shirazu.ac.ir)
2 and 3- Ph.D. in Department of Research and Development, Sodour Ahrar Shargh Company, Tehran, Iran
https://doi.org/10.22067/jhs.2023.79650.1209

There was a significant difference between nano chelated calcium and calcium chloride in calcium enrichment in pulp and fruit skin Calcium chloride and nano chelated calcium treatments dissolved in hot water reduced weight loss, soluble solids content, acidity, ascorbic acid, ion leakage and malondialdehyde and the activity of the antioxidant enzymes catalase and peroxidase. Nano chelated calcium increased calcium content by 44% in fruit skin and up to 41% in fruit pulp compared to calcium chloride. Nano chelated calcium 3 and 6 % showed more stability in fruit weight (159 and 400%, respectively) compared to calcium chloride after two months of storage. After 60 and 120 days of storage, the content of ascorbic acid in fruits treated with 6 nano chelated calcium was 73% higher than calcium chloride. Nano chelated calcium 3 % compared to calcium chloride prevented 39.6 of potassium ion leakage during 60 days of storage. The amount of ascorbic acid in the 3% and 6% nano calcium treatment and the tissue hardness in the 3% nano calcium chelate treatment after two months of storage were estimated to be higher than the control and calcium chloride. Calcium nano chelate 6% improved the calcium content of fruit flesh and skin due to increased permeability. Warm water pretreatment with calcium compounds is an efficient and recommendable treatment for the preservation of orange fruits in cold storage conditions due to the improvement and reduction of the severity of the increase in indicators related to the occurrence of frost damage in the skin of fruits.

Conclusion

One of the primary concerns during storage is the loss of fruit weight. Calcium nano chelate, in comparison to the control and calcium chloride treatments, exhibited the least weight loss over the two months of storage. This is attributed to the critical role of calcium in influencing the shelf life of fruits. It was observed that immersing fruits in calcium compounds dissolved in hot water and utilizing 6% nano chelated calcium had a significant positive impact on enhancing and preserving the quality of orange fruits during cold storage.

Keywords: Antioxidant enzymes, Chilling indices, Electrolyte leakage, Weight loss

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۳، پاییز ۱٤۰۲، ص. ۸۱۹-۸۰۱

اثر کاربرد پس از برداشت آب گرم، کلرید کلسیم و کود نانوکلات کلسیم برکاهش آسیب سرمازدگی و افزایش عمر انبارمانی میوه پرتقال رقم 'محلی داراب'

مجید راحمی[1*]- محمد حسن نظران[2]- سمیرا ابوالقاسمی[3]- سحر صداقت[4]- مریم زارع[5]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۳۰
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۰/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۲۶

چکیده

استفاده از تیمارهای گرمایی به همراه کلسیم به عنوان روش‌های فیزیکی مطمئن، و جایگزین به منظور کاهش آسیب سرمازدگی رو به افزایش است. در این پژوهش اثر تیمارهای پس از برداشت کلرید کلسیم و نانوکلات کلسیم بر سرمازدگی و ویژگی‌های فیزیولوژیکی پرتقال رقم 'محلی داراب'، فارس، در دمای ۲/۵±۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۸۵ درصد به مدت ۶۰ تا ۱۲۰ روز بررسی شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی که فاکتور اول شامل کلرید کلسیم و نانوکلات کلسیم با غلظت های صفر، ۳ و ۶ درصد در آب سرد ۲۰ درجه سلسیوس (شاهد) به مدت ۲۵ دقیقه و آب گرم ۴۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه و فاکتور دوم زمان انبارمانی ۶۰ روز و ۱۲۰ روز بود. پس از انبارمانی ویژگی‌های کمی و کیفی بررسی شدند. تیمارهای کلرید کلسیم و نانوکلات کلسیم به همراه آب گرم در مقایسه با شاهد سبب کمتر شدن کاهش از دست دادن وزن، مواد جامد محلول، اسیدیته، آسکوربیک اسید، نشت یونی و مالون دی آلدهید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز گردید. نتایج نشان داد که ترکیبات کلسیم همراه با آب گرم سبب حفظ میزان کلسیم، افزایش روشنایی و مقدار کروما و زاویه هیو در پوست میوه شدند. بین نانو کلات کلسیم و کلرید کلسیم در غنی‌سازی کلسیم در گوشت و پوست میوه تفاوت معنی‌داری دیده شد به‌طوری‌که نانو کلات کلسیم در مقایسه با کلرید کلسیم در پوست میوه تا ۴۴ درصد و در گوشت میوه تا ۴۱ درصد موجب حفظ بیشتر میزان کلسیم شد. نانوکلات کلسیم ۳ و ۶ درصد در دو ماه انبارداری نسبت به کلرید کلسیم به‌ترتیب ۱۵۹ و ۴۰۰ درصد ثبات بیشتری در وزن میوه ایجاد کرد. میزان آسکوربیک اسید در میوه‌های تیمار شده با نانوکلات کلسیم ۶ درصد بعد از دو و چهار ماه انبارداری تا ۷۳ درصد بیشتر از کلرید کلسیم مشاهده شد. نانو کلات کلسیم ۳ درصد نسبت به کلرید کلسیم در طی دو ماه انبارداری تا ۳۹/۶ درصد از نشت یون پتاسیم جلوگیری کرد. مشخص گردید غوطه‌وری میوه‌ها در تیمارهای نانو کلات کلسیم ۳ یا ۶ درصد به همراه تیمار دمایی آب گرم یا سرد، می‌تواند در بهبود و حفظ کیفیت میوه‌های پرتقال محلی در طول انبارمانی سرد تأثیر بسزایی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، شاخص سرمازدگی، کاهش وزن، نشت یونی

مقدمه

پرتقال (*Citrus sinensis*) یکی از مهمترین محصولات میوه های تجاری است (Topuz *et al*., 2005) و به دلیل عطر، طعم و مواد مختلف مفید بسیار مورد پسند است (Habibi and Ramezanian, 2017). شهرستان داراب با سطح زیر کشت ۹ هزار و ۹۵۶ هکتار و تولیدی بیش از ۱۳۷ هزار تن محصول، هم از نظر سطح زیر کاشت و هم از نظر میزان تولید پرتقال، رتبه اول را در استان فارس دارد. کار برداشت پرتقال در شهرستان داراب از رقم ناول آغاز شده است، و ارقام محلی و والنسیا از دیگر ارقام پرتقال این شهرستان است که مورد مصرف قرار می‌گیرد (Ahmadi *et al*., 2018). تقریبا تمام پرتقال‌ها به دلیل داشتن رطوبت زیاد به عنوان

۱، ۴ و ۵- به‌ترتیب استاد و دانش‌آموخته دکتری گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز
(*- نویسنده مسئول: Email: rahemi@shirazu.ac.ir)
۲ و ۳- کارشناسان شرکت دانش‌بنیان صدور احرار شرق، تهران
https://doi.org/10.22067/jhs.2023.79650.1209

میوه و آب میوه تازه مصرف می‌شوند و به دلیل تعرق و تنفس، درخشندگی و مواد مغذی خود را به سرعت از دست می‌دهند، این تغییرات در کیفیت مرکبات باعث می‌شود میوه‌ها بیشتر در معرض میکروارگانیسم‌ها قرار گرفته و خراب شوند (Deng *et al.*, 2015).

کیفیت پایین میوه ها و درصد بالای ضایعات بعد از برداشت، یکی از مشکلات اصلی صنعت مرکبات ایران می باشد به طوریکه این مقدار گاهی از یک سوم محصول تولید شده نیز تجاوز می کند. افزایش استحکام پوست میوه ها و بهبود کیفیت آنها به منظور کاهش درصد تلفات محصول گامی موثر برای افزایش بهره وری و اقتصاد ملی می باشد (Supanjani *et al.*, 2005). از مهمترین مشکلات پس از برداشت برای انبارمانی پرتقال، کاهش وزن، آسیب سرمازدگی و بروز پوسیدگی ناشی از قارچ پنسیلیوم (*Penicillium italicum* و *P. digitatum*) است (Zeng *et al.*, 2010). دمای پایین در کاهش از دست دادن وزن (ناشی از تنفس) و بروز پوسیدگی بسیار موثر است. با این حال، مرکبات به دمای پایین بسیار حساس هستند (Kahramanoˇ glu, 2017). دمای پیشنهادی برای نگهداری پرتقال بین ۵ تا ۸ درجه سلسیوس است (Kader and Arpaia, 2002). قرار گرفتن در معرض دمای پایین برای مدت طولانی به غشای سلولی آسیب می‌رساند که به دلیل تولید گونه‌های اکسیژن فعال است (Lado *et al.*, 2016).

استفاده از تیمارهای گرمایی به عنوان روش‌های فیزیکی مطمئن، و جایگزین رو به افزایش است، این تیمارها به منظور حفظ کیفیت پس از برداشت و نیز جلوگیری از بروز سرمازدگی محصولات باغی کاربرد دارند (Mirdehghan, *et al.*, Mirdehghan *et al.*, 2007; 2006). تیمار گرمایی مانند آب گرم یا هوای گرم به طور قابل توجهی بر فعالیت آنزیم‌ها تاثیر می‌گذارد (Atrash *et al.*, 2018;Yun *et al.*, 2013). همچنین از روش‌های توصیه شده برای کاهش ضایعات میوه‌ها، افزایش غلظت کلسیم میوه با استفاده از املاح کلسیم است. کلسیم یکی از مهم‌ترین عناصر معدنی است که در تعیین کیفیت میوه و زمان ماندگاری آن دخالت دارد (Marschner, 1995;Gooderzi, 2017).کلسیم در پایداری دیواره سلولی و غشا پلاسمایی نقش اساسی به عهده دارد. در تیغه میانی کلسیم تقریبا به طور تعویض نشدنی به گروه‌های کربوکسیل اسید گالاکتورونیک چسبیده و باعث پایداری آنها می‌شود. در کمبود کلسیم، نشت سوبستریت‌های تنفسی از واکوئل‌ها به درون سیتوپلاسم بیشتر شده که منجر به افزایش میزان تنفس و در نهایت سبب کاهش عمر انباری میوه‌ها خواهد شد. به دلیل عدم تحرک کلسیم در آوندهای آبکش و همچنین تحرک کند آن از برگ به طرف میوه کمبود آن در اکثر میوه‌های گوشتی دیده می شود، بنابراین روش‌هایی که بتوان به کمک آنها کلسیم میوه‌ها را بهتر و سریع تر افزایش داد می‌توانند در بهبود کیفیت میوه‌ها، کاهش تلفات و افزایش عمر انباری آنها بسیار موثر باشند (Supanjani *et al.*, 2005). پت مانابان و همکاران (Path manaban *et al.*, 1995) نشان دادند که غوطه‌وری میوه‌های لیمو ترش و پرتقال در محلول ۴ درصد کلرید کلسیم و ۳۰ گرم در کیلوگرم کربنات کلسیم، عمر انباری را نسبت به میوه‌های شاهد افزایش داد و در مقابل از دست دادن رطوبت در شاهد بیشترین مقدار بود.

کاهش یا حذف کاربرد کودهای شیمیایی برای محصولات مورد توجه بسیاری از افراد در سال های اخیر قرار گرفته است. گزارش شده است که آخرین تحقیقات بر پتانسیل فناوری نانو برای ارزش غذایی، کیفیت و ایمنی تولید مواد غذایی متمرکز شده است (Thiruvengadam *et al.*, 2018). پیشرفت در علم نانو، معرفی فرمولاسیون‌های کودی برای نفوذ بهتر به سلول و کارایی بالاتر جذب مواد مغذی را بهبود بخشیده است. اگرچه استفاده از این تکنولوژی ممکن است سبب مسمومیت گیاهی در اثر تجکع در گیاه شود (Thiruvengadam *et al.*, 2018). تحقیقات انجام شده در مورد استفاده از کودهای نانو در برخی از گونه‌های درختان میوه نقش بالقوه آنها را در بهبود عملکرد محصول و خواص فیزیکی و شیمیایی میوه نشان داده است (Zagzog and Gad, 2017). رنجبر و همکاران (Ranjbar *et al.*, 2018) گزارش کردند که کاربرد پیش از برداشت کود نانو کلسیم سبب افزایش خصوصیات کیفی و عمر پس از برداشت سیب شد. در پژوهشی دیگر گزارش شده است که کاربرد کودهای نانو کلسیم سبب کاهش ترک خوردگی میوه انار شد (Davarpanah *et al.*, 2018). اُلوکانلی و اُز (Oz and Ulukanli, 2013) گزارش کردند که تیمار کلرید کلسیم مقدار رنگ توت (L*،a* و b*) و مقدار آسکوربیک اسید را حفظ کرده و منجر به کاهش سرعت قهوه ای شدن در این میوه شده است.

رمضانیان و همکاران (Ramezanian *et al.*, 2010) گزارش کردند میوه های انار تیمار شده با کلرید کلسیم کاهش وزن، نشت یون پتاسیم و فعالیت پلی فنل اکسیداز کمتری همراه با مقدار بالای آسکوربیک اسید و فنل کل را نشان دادند. شیرا و همکاران (Schirra *et al.*, 2004) با انجام تیمارهای حرارتی آب و هوای داغ روی پرتقال‌های خونی دریافتند که غوطه وری در آب گرم ۵۰ درجه در زمان ۳ دقیقه و هوای داغ ۳۷ درجه به مدت ۴۸ ساعت سرمازدگی را کاهش داد و اثری روی شاخص‌های کیفی میوه نداشت. کلیمچاک و همکاران (Klimczak *et al.*, 2007) با بررسی اثر مدت و دمای نگهداری (دماهای ۱۸، ۲۸ و ۳۸ درجه سلسیوس به مدت ۶ ماه) گزارش کردند که کاهش در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به دلیل کاهش در مقدار آسکوربیک اسید و فنل کل بوده است. همچنین، تقی پور و همکاران (Taghipour *et al.*, 2019) بیان کردند میوه‌های انار تیمار شده با آب گرم ۴۵ درجه سلسیوس، قبل از انبارمانی سبب کاهش آسیب سرمازدگی و کاهش وزن میوه‌های تحت تیمار شده است و

میزان فنل کل و محتوای مالون دی آلدئید میوه‌های تیمار شده کمتر از میوه‌های شاهد بدست آمده است. طبق گزارش‌های وانگ و همکاران (Wang *et al.*, 2006) تیمار گرمایی می‌تواند باعث کنترل آفات، جلوگیری از شیوع پاتوژن‌ها، افزایش مقاومت به صدمات سرمازدگی، تأخیر در رسیدن میوه و توسعه عمر قفسه‌ای گردد. بنابراین، دستیابی به روش‌هایی که بتواند سرمازدگی را در این گونه محصول‌ها کاهش دهد، می‌تواند سبب افزایش عمرانباری آن‌ها شود. انبارمانی یکی از مهم‌ترین مراحل پس از برداشت است و بررسی راه های مناسب برای جلوگیری از آسیب‌های پس از برداشت در دوره انبارمانی ضروری می‌باشد. با توجه به این موضوع که کاربرد کودهای نانو سبب بهبود کیفیت در دوره انبارمانی می‌شود و تیمار گرمایی هم یک روش فیزیکی مطمئن می‌باشد ولی اطلاعاتی راجع به کاربرد هر دو با هم در میوه‌ها درطول انبارمانی در دسترس نیست، بنابراین، هدف از انجام این پژوهش بررسی تاثیر تیمارهای گرمایی به همراه کلرید کلسیم و نانوکلات کلسیم به منظور تعدیل سرمازدگی و افزایش کیفیت پرتقال واشنگتن ناول در دمای ۲ درجه سلسیوس به مدت ۶۰ و ۱۲۰ روز پس از انبارمانی در رطوبت نسبی ۸۵٪ بوده است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، میوه‌های پرتقال رقم 'محلی داراب'، فارس *Citrus sinensis* cv. Darab local در مرحله بلوغ تجاری بر اساس شاخص طعم (TSS/TA≃۱۰) از شهرستان داراب استان فارس تهیه و به آزمایشگاه فیزیولوژی بخش علوم باغبانی دانشگاه شیراز منتقل شدند. سپس میوه‌ها با هیپوکلریت سدیم ۲ درصد گندزدایی و با آب مقطر شسته شدند. تیمارهای مورد استفاده در این پژوهش شامل کلرید کلسیم و نانوکلات کلسیم با غلظت‌های ۳ درصد و ۶ درصد محلول در آ ب سرد در دمای محیط (۲۰ درجه سلسیوس) به مدت ۲۵ دقیقه و آب گرم ۴۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه و تیمار شاهد (بدون ترکیبات کلسیم) بودند، نانوکلات کلسیم از شرکت دانش بنیان صدور احرار شرق، تهیه گردید. روی میوه‌های شاهد هیچ گونه تیماری انجام نشد. میوه‌ها پس از اعمال تیمار در کیسه‌های پلاستیکی با ۱۶ سوراخ به منظور تبادل هوا قرار گرفتند. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی که فاکتور اول شامل کلرید کلسیم و نانوکلات کلسیم با غلظت‌های صفر، ۳ و ۶ درصد در آب سرد۲۰ درجه سلسیوس (شاهد) به مدت ۲۵ دقیقه و آب گرم ۴۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه و فاکتور دوم زمان انبارمانی ۶۰ و ۱۲۰ روز با ۱۰ تیمار و سه تکرار (۸ میوه به عنوان نمونه) (در مجموع ۳۰۰ میوه پرتقال) به منظور بررسی اثر تیمارها بر انبارمانی طولانی مدت در دمای بحرانی ۲/۵±۰درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۸۵ درصد انجام گردید. نمونه‌برداری در روزهای۶۰ و ۱۲۰ انجام گرفت. برای شبیه‌سازی شرایط عمر قفسه‌ای قبل از اندازه‌گیری شاخص‌ها، میوه ها به مدت دو روز در دمای آزمایشگاه قرار گرفتند. در این پژوهش تغییرهای سفتی بافت میوه، شاخص سرمازدگی، درصد کاهش وزن، ماده‌های جامد محلول، اسیدیته کل، آسکوربیک اسید، نشت یونی، نشت یون پتاسیم، مالون دی آلدهید، مقدار کلسیم پوست و گوشت میوه، رنگ میوه، آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز اندازه‌گیری شدند.

برای اندازه‌گیری درصد کاهش وزن میوه‌ها قبل و پس از خروج از انبار توزین شدند و با استفاده از رابطه زیر درصد کاهش وزن میوه‌ها محاسبه شد (Rahman *et al.*, 2016).

$$\text{درصد کاهش وزن} = \frac{\text{اختلاف وزن میوه ها قبل و بعد از هر دوره نگهداری}}{\text{وزن کل میوه}} \times 100$$

برای اندازه‌گیری مواد جامد محلول کل (TSS) میوه از دستگاه دستگاه قندسنج دیجیتالی مدل ATAGO-B933475 ساخت کشور ژاپن استفاده شد و سپس مقدار ماده جامد محلول به درصد بیان شد (Ramezanian *et al.*, 2009).

اسیدیته کل (TA) به روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال اندازه گیری شد. برای این منظور از میوه‌های هر تیمار، ۵ میلی‌لیتر آب میوه در یک بشر ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته و به آن محلول سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به pH ۸/۲ به تدریج افزوده شد. مقدار سود مصرفی یادداشت شد. برای محاسبه اسیدیته کل از فرمول زیر استفاده شد (Varasteh *et al.*, 2012).

$$\text{اسیدیته کل}\ (\%) = \frac{\text{میلی اکی والانت اسید سیتریک} \times \text{نرمالیته سود} \times \text{مقدار سود مصرفی}}{\text{میلی لیتر نمونه}} \times 100$$

مقدار سفتی بافت میوه با استفاده از دستگاه بافت‌سنج (TA-XT2,UK) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری سفتی از پروب دایره‌ای مسطح به قطر ۳۵ میلی‌متری و نیروی فشردگی ۱۰ گرم استفاده شد. نیروی لازم بر حسب نیوتن (N) برای فشرده شدن تا ۱۰ درصد قطر میوه‌ها گزارش شد (Njombolwana *et al.*, 2013).

مقدار آسکوربیک اسید با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Dynamica, UK) اندازه‌گیری شد. ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره میوه با ۱۰ میلی‌لیتر متافسفریک اسید ۱ درصد آمیخته شد و با تکان دهنده انگشتی یکنواخت شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از آن با ۹ میلی‌لیتر دی کلروایندوفنول با غلظت ۵۰ میکرولیتر در لیتر مخلوط شد و با تکان دهنده انگشتی به شدت تکان داده و در نهایت جذب آمیخته واکنش در طول موج ۵۱۵ نانومتر خوانده شد. غلظت آسکوربیک اسید با استفاده از منحنی استاندارد تهیه شده از غلظت‌های مختلف ال- آسکوربیک اسید محاسبه شد (AOAC, 2000).

برای اندازه‌گیری نشت یونی از قسمت‌های استوایی پوست میوه ۶ تا ۱۰ دیسک به قطر ۱۰۰ میلی‌متر (به وزن ۱ گرم) با چوب پنبه

سوراخ کن برداشته شد. تکه‌های پوست به مدت ۱ دقیقه در ۱۰ میلی لیتر آب دیونیزه شسته و سپس در داخل ۱۰ میلی‌لیتر مانیتول ۰/۲ مولار قرار گرفتند. پس از ۳ ساعت قرار گرفتن روی شیکر با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه، هدایت الکتریکی اولیه (EC1) محلول توسط توسط دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی Metrohm (مدل 644 Conductometer) ساخت کشور سویس اندازه‌گیری شد. سپس محلول حاوی نمونه‌ها در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت. پس از قرار گرفتن در دمای محیط و هم دما شدن با محیط با اندازه‌گیری مجدد هدایت الکتریکی ثانویه (EC2) میزان درصد نشت یونی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Wang *et al.*, 2014).

$$EC(\%) = \frac{\text{(EC1) هدایت الکتریکی اولیه}}{\text{(EC2) هدایت الکتریکی ثانویه}} \times 100$$

برای نشت یون پتاسیم، مشابه آنچه که برای نشت یونی بیان شد انجام شد و از دستگاه Flame photometer Model PFP7, JENWAY ساخت کشور انگلستان برای اندازه‌گیری نشت اولیه و نشت کل یون پتاسیم استفاده شد. مشابه نشت الکترولیت درصد نشت یون پتاسیم به صورت درصدی از نشت کل محاسبه شد (Lurie and Klein, 1991).

$$\text{درصد نشت یون پتاسیم} = \text{نشت اولیه}/\text{نشت کل} \times 100$$

شاخص سرمازدگی میوه‌ها در هر یک از زمان‌های نمونه‌برداری مورد بررسی قرار گرفت. میوه‌های دارای لکه‌های پوستی و اختلال های ظاهری ناشی از سرمازدگی شمارش شدند. نمره آسیب سرمازدگی به صورت صفر (بدون صدمه)، ۱ (ملایم، با تعداد لکه پوستی کم)، ۲(متوسط) و ۳ (شدید) گروه‌بندی شد. اندازه‌گیری آسیب سرمازدگی از تقسیم مجموع کل میوه‌هایی که آسیب سرمازدگی ظاهری نشان داده‌اند بر کل میوه در هر تیمار به دست آمد و میزان شاخص سرمازدگی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Sapitnitskaya *et al.*, 2006).

$$\text{شاخص سرمازدگی} = \frac{\sum(\text{تعداد میوه مربوط به آن} \times \text{درجه سرمازدگی})}{\text{تعداد کل میوه ها} \times 4}$$

عصاره‌گیری جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز

برای استخراج عصاره آنزیمی، ابتدا، ۰/۵ گرم نمونه برگ منجمد نگهداری شده در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد را در نیتروژن مایع به طور کامل سائیده و به میکروتیوپ‌های ۲ میلی‌متری منتقل گردیدند. سپس ۲ میلی‌لیتر بافر استخراج فسفات پتاسیم به آن اضافه و به خوبی ورتکس شدند. محلول حاصل به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۳۰۰۰rpm در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و پس از آن فاز رویی با استفاده از سمپلر برداشته و به میکروتیوپ‌های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل شده و به مدت ۱۰دقیقه با ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی جدا گردید و جهت اندازه‌گیری‌های بعدی میزان فعالیت آنزیم‌ها استفاده گردید.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز از روش دینسا و همکاران (Dhindsa *et al.*, 1981) استفاده شد. براساس این روش ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج با یک میلی‌لیتر محلول اندازه‌گیری کاتالاز که شامل ۵۰ میلی‌مول بافر فسفات پتاسیم (pH =7) و ۱۵ میلی‌مول پراکسید هیدروژن بود، مخلوط گردید. سپس جذب آن در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه با دستگاه اسپکتوفتومتر (مدل visible-T60uv ساخت کشور ژاپن) قرائت شد. فعالیت آنزیمی براساس تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر گرم وزن‌تر بافت گیاهی محاسبه گردید.

برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز، محلول واکنش در حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر برای پراکسیداز شامل ۲/۷۹ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی‌مولار(pH= ۷)، ۱۰۰میکرولیتر گایاکول ۱/۶ ۰ مولار، ۱۰۰میکرولیتر پراکسیدهیدروژن، ۱/ ۲مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی‌بود. تغییر جذب محلول واکنش در طول موج۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد فعالیت آنزیمی براساس تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر گرم وزن‌تر بافت گیاهی محاسبه گردید (Chance and Maehly, 1955).

شاخص رنگ میوه‌ها با دستگاه رنگ‌سنج (مدل CR400/4P، ساخت ژاپن) به صورت *L (درخشندگی یا روشنی)، *a (قرمزی – سبزی) و *b (زردی- آبی) اندازه‌گیری شد و زاویه فام (Hue°) و میزان خلوص رنگ (کروما) بااستفاده ازفرمول‌های زیر محاسبه شد (Giménez *et al.*, 2016).

$$Hue^{\circ} = Arctan\frac{b^*}{a^*} \quad Chroma = \sqrt{a^2 + b^2}$$

میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی در بافت، با ارزیابی میزان تشکیل مالون دی آلدهاید (به عنوان محصول پراکسیداسیون لیپیدی) به روش هیث و پکر (Heath and Packer, 1968) و با کاربرد تیوباربیتوریک اسید به عنوان ماده مسبب واکنش تعیین شد. برای این منظور از دستگاه میکروپلیت ریدر (مدل Epoch ساخت شرکت بیوتک آمریکا استفاده شد. محتوای مالون دی آلدهاید هر نمونه با استفاده از ضریب خاموشی ۱۵۵ میلی‌مولار بر سانتی‌متر و با کم کردن مقدار عددی خوانده شده در ۶۰۰ نانومتر از مقدار عددی جذب در ۵۳۲ نانومتر محاسبه و برحسب میکرومول در هر گرم وزن تازه گزارش شد.

برای اندازه‌گیری مقدار کلسیم پوست و گوشت میوه، یک گرم از پودر تهیه شده از نمونه (پوست میوه) در دمای ۴۵۰ درجه سلسیوس به خاکستر تبدیل شد. به ازای هر گرم، ۵ میلی‌لیتر کلریدریک اسید ۳

نرمال افزوده و با آب جوش درون یک فلاسک ۵۰ میلی‌لیتری ریخته و به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس مقدار کلسیم توسط دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد. تمام مقدار کلسیم بر اساس میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک گزارش شد (Meyers *et al*., 2003). واکاوی داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون LSD در سطح احتمال ۵ ٪ انجام شد.

نتایج و بحث

کاهش وزن

نتایج این پژوهش نشان داد بین تیمار آب سرد و آب گرم شاهد در طی انبارمانی تفاوت معنی‌داری در کاهش وزن وجود نداشت. اما بین تیمارهای مختلف نسبت به شاهد تفاوت معنی داری مشاهده شد (جدول ۱). برهمکنش زمان انبار مانی و غلظت های مختلف ترکیبات کلسیم (جدول ۱) نشان داد که با گذشت زمان کاهش وزن میوه اتفاق افتاده بود به طوری که کمترین درصد کاهش وزن (۱/۹۳ درصد) در۲ ماه انبارمانی در تیمار نانوکلات کلسیم ۳ درصد همراه با آب گرم بدست آمد و بیشترین درصد کاهش وزن (۱۴/۴۷ درصد) در تیمار کلرید کلسیم ۶ درصد همراه با آب گرم در طول دو ماه انبارمانی بدست آمد (جدول ۱). تیمار دمایی همراه با کلسیم تاثیر معنی‌داری بر درصد کاهش وزن در طی ۱۲۰ روز انبارمانی در مقایسه با شاهد داشت. تیمار نانوکلات کلسیم با آب گرم نسبت به تیمار کلرید کلسیم با آب گرم از دست دادن رطوبت بیشتر جلوگیری کرده است. در این خصوص، میزان کاهش وزن میوه در تیمارهای شاهد و نیز کلرید کلسیم، به‌ترتیب، بیش از سه برابر و حدود پنج برابر میوه‌های تیمار شده با نانوکلات کلسیم بوده است. بدلیل ذرات ریز نانو سبب جذب بیشتر و واکنش‌پذیری بالاترمی‌شود (Ranjbar *et al*., 2020) کاهش وزن به دلیل تنفس، تعرق و فعالیت متابولیکی اتفاق می‌افتد (Shafiee *et al*., 2010). از آنجا که کلسیم یکپارچگی و انسجام غشا پوست میوه را حفظ می کند، منجر به استحکام بالا و از دست دادن رطوبت کم از میوه می‌شود و تنفس میوه را کاهش می‌دهد (Ranjbar *et al*., 2018).

ولرو و همکاران (Valero *et al*., 2002) بیان کردند که در طی تیمار گرمایی میوه‌ها، از طریق فعال شدن آنزیم پکتین متیل استراز، گروه‌های پکتین با متوکسیل پایین ایجاد می‌شوند که با کلسیم درونی متصل شده و باعث مقاومت بیشتر سلول‌ها به آنزیم‌های تجزیه کننده دیواره سلولی می‌گردند. همچنین بیان کردند که میوه‌های لیمو تیمار شده با آب ۴۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه به طور معنی‌داری از کاهش وزن جلوگیری کرد. لامیکانرا و واتسون (Lamikanra and Watson, 2004) گزارش کردند غوطه ور کردن طالبی‌های خرد شده در دمای ۴ درجه سلسیوس در محلول لاکتات کلسیم ۱/۵ درصد برای ۳ دقیقه پایین‌ترین تنفس و خسارت ناشی از کاهش میزان رطوبت نسبت به میوه‌های تیمار شده در دمای محیطی ۲۵ درجه سلسیوس به همراه داشتند. تیمار دمایی همراه با ترکیبات کلسیمی نقش موثری در کمتر کاهش یافتن وزن میوه در اثر تبخیر و تعرق دارد.

مواد جامد محلول

نتایج این پژوهش نشان داد بین تیمار آب سرد و آب گرم (شاهد) بر مواد جامد محلول میوه پرتقال در طی انبارمانی تفاوت معنی‌داری بین هر دو تیمار وجود داشت. تیمار آب گرم سبب افزایش مواد جامد محلول درطی انبارمانی شده است (جدول ۱). اثرات برهمکنش زمان انبارمانی و غلظت‌های مختلف ترکیبات کلسیم بر مواد جامد محلول میوه پرتقال نشان داد که کمترین مواد جامد محلول (۸/۸۰ درصد) در ۴ ماه انبارمانی در تیمار نانوکلات کلسیم ۳ درصد همراه با آب گرم بدست آمد و بیشترین مواد جامد محلول (به‌ترتیب ۱۵/۳۳ درصد و ۱۵/۷۳ درصد) در تیمار شاهد آب گرم و کلرید کلسیم ۳٪ آب گرم در طی ۴ ماه انبارمانی بدست آمد (جدول ۱). در طی انبارمانی با کاربرد تیمار گرمایی و آب گرم مواد جامد محلول افزایش نشان داد. علی و همکاران (Ali *et al*., 2013a) مشاهده کردند که کلسیم می‌تواند در شروع پیری پس از برداشت میوه که در رابطه با ترکیباتی مانند قندها، اسیدها، آنتوسیانین‌ها و همچنین با توجه به بافت میوه تاثیر بگذارد. ریورا- لوپز و همکاران (Rivera-López *et al*., 2005) بیان کردند که میزان TSS میوه در طی انبارمانی افزایش می‌یابد. علاوه بر این میوه‌های فلفل دلمه‌ای تیمار شده با نانوکلسیم قبل از برداشت TSS کمتری نسبت به میوه شاهد در طی انبارمانی داشتند (Amini *et al*., 2016). تورس و همکاران (Torres *et al*., 2017) گزارش کردند که TSS میوه با کاربرد کلسیم در سیب کاهش یافته است. اختر و همکاران (Akhtar *et al*., 2010) گزارش نمودند که کلرید کلسیم اثر معنی‌داری بر میزان مواد جامد محلول میوه ازگیل ژاپنی داشته است. بیان کردند که افزایش مقدار مواد جامد محلول درطول مدت انبارمانی، شاید به دلیل هیدرولیز پلی ساکاریدها و تغلیظ شدن عصاره میوه باشد. تحقیقات نشان داده که تیمار گرمایی باعث حفظ مواد جامد محلول و اسیدهای ارگانیک در سیب می‌شود (Klein and Lurie, 1994). در میوه‌های فرازگرا افزایش مواد جامد محلول بیشتر به دلیل تبدیل نشاسته به قندهای محلول رخ می‌دهد. تجزیه نشاسته پیش از بلوغ میوه، منبع عمده قندهای ساکاروز، گلوکز و فروکتوز می باشد که سبب شیرین شدن میوه می‌شود. میوه مرکبات نافراگزا بوده و افزایش مواد جامد محلول نمی‌تواند به دلیل تبدیل نشاسته باشد (Rapisarda *et al*., 2008). بنابراین به‌نظر می‌رسد که افزایش مواد جامد محلول در پرتقال بدلیل از دست دادن آب میوه بوده (Kelebek

(*et al*., 2009) که تیمار نانوکلات کلسیم سبب بهبود مواد جامد محلول شد. کلسیم با کاهش تنفس و تولید اتیلن سرعت وقوع پیری را کاهش داده و از افزایش مواد جامد محلول جلوگیری می‌کند (Dong and Wang, 2018).

اسیدیته کل

نتایج این پژوهش نشان داد بین تیمار آب سرد و آب گرم شاهد بر اسیدیته کل میوه پرتقال در طی انبار مانی تفاوت معنی‌داری بین هر دو تیمار وجود نداشت (جدول ۱). اثر برهمکنش زمان انبارمانی و غلظت تیمارهای مختلف کلسیم بر اسیدیته قابل تیتراسیون معنی‌دار بود. در طی دو ماه انبارمانی بیشترین مقدار اسیدیته (۰/۷۸۶ درصد) در تیمار نانوکلات کلسیم ۶ درصد همراه با آب گرم بدست آمد. کمترین مقدار اسیدیته (به‌ترتیب ۰/۵۶۷ و ۰/۵۷۳ درصد) در ۴ ماه انبارمانی در تیمارهای کلرید کلسیم ۶ درصد همراه با آب گرم و سرد و نانوکلات کلسیم ۶درصد همراه با آب سرد بدست آمد (جدول ۱). در طی انبارمانی مقدار اسیدیته کاهش نشان داد و کاهش اسیدیته با کاربرد ترکیبات کلسیم و تیمار دمایی به تاخیر افتاد. کاهش اسیدیته در طی انبارمانی می‌تواند به دلیل نقش اسیدها در تنفس باشد (Ghafir *et al*., 2009). به‌نظر می‌رسد که حفظ بهتر اسیدیته در میوه‌های تیمار شده با نانوکلات کلسیم در زمان برداشت و در طی انبارمانی به دلیل کاهش پروسه تنفس و کاهش مصرف اسیدها در این پروسه بوده که می‌تواند اثر مثبتی روی طعم و ویتامین ث داشته باشد (Cordenusi *et al*., 2003). نقش کلسیم در به تاخیر انداختن رسیدن میوه وکاهش تولید اتیلن و میزان تنفس تایید شده است، بنابراین سرعت تغییرات اسیدیته قابل تیتر را کاهش می‌دهد. منگناریس و همکاران (Manganaris *et al*., 2007) در میوه هلو و اسحاق و همکاران (Ishaq *et al*., 2009) در میوه زردالو گزارش کردند که کلرید کلسیم در هنگام انبارمانی اسیدیته را حفظ می‌کند. از طرفی، اسیدیته در فلفل شیرین توسط نانوکلسیم قبل برداشت افزایش می‌یابد (Amini *et al*., 2016).

سفتی بافت میوه

اثر برهمکنش زمان انبارمانی و غلظت تیمارهای مختلف بر سفتی بافت میوه معنی‌دار بود. در طی ۴ و ۲ ماه انبارمانی بیشترین مقدار سفتی بافت میوه (به‌ترتیب ۴۹/۷۸ و ۵۲/۲۸ نیوتن) در تیمار نانوکلات کلسیم ۳ درصد همراه با آب ۴۵ درجه سلسیوس بدست آمدکه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با تیمار کلرید کلسیم ۶ درصد همراه با آب ۴۵ درجه سلسیوس نداشتند. کمترین مقدار سفتی (به‌ترتیب ۲۴/۹۷ و ۲۹/۸۰ نیوتن) بافت میوه در تیمار شاهد آب سرد طی چهار ماه و دو ماه انبارمانی بدست آمد (جدول ۱). در این رابطه، میزان سفتی بافت میوه در تیمار نانوکلات ۳ درصد در ۴ ماه انبارمانی، ۶۲ درصد بیشتر از تیمار شاهد بوده است. همچنین، تیمار نانوکلات ۳ درصد در آب گرم، تا ۲۷ درصد بهتر از تیمارهای کلرید کلسیم در حفظ سفتی بافت میوه، عمل کرده است. حفظ استحکام با استفاده از نانو کلسیم وکلرید کلسیم در زمان برداشت و در زمان انبارمانی به دلیل نقش کلسیم در ایجاد ثبات در غشای سلولی است (Hirschi, 2004). کلسیم می‌تواند با اسید پکتیک تعامل ایجاد کرده و پکتات کلسیم ایجاد کند و منجر به حفظ ساختار دیواره سلولی و افزایش سفتی دیواره سلولی میوه شود (Lee *et al*., 2003). کلسیم فعالیت آنزیم‌هایی را که باعث نرم شدن می‌شوند را تنظیم می‌کند (Chuni *et al*., 2010). تیمار نانوکلسیم و کلرید کلسیم همراه با آب گرم نسبت به شاهد استحکام بالاتری را نشان داد که ممکن است به دلیل نفوذ بیشتر نانوذرات و جذب بهتر سلول‌های گیاهی باشد.پیش از این اثرات کلرید کلسیم بر میزان سفتی میوه گزارش شده است (Hussain *et al*., 2012). ناوجت و همکاران (Sidhi *et al*., 2010) در مورد میوه هلو پیشنهاد کرد که استفاده از کلسیم باعث کاهش نرم شدن و حفظ استحکام بافت میوه در طی انبارمانی می‌شود. تیمار دمایی همراه با ترکیبات کلسیم باعث به تاخیر افتادن نرم شدن میوه می‌شود.

آسکوربیک اسید

نتایج نشان داد که بین تیمار آب سرد و گرم شاهد بر آسکوربیک اسید در طی انبار مانی تفاوت معنی دار وجود داشت و با گذشت زمان آسکوربیک اسید در هر دو تیمار کاهش نشان داد که از نظر آماری تفاوت معنی داری باهم نداشتند. اثر برهمکنش زمان انبارمانی و غلظت تیمارهای مختلف بر آسکوربیک اسید معنی‌دار بود. در طی دو ماه انبارمانی بیشترین مقدار آسکوربیک اسید (۸۰/۵۹ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر عصاره) در تیمار نانو کلات کلسیم ۳ درصد همراه با آب گرم بدست آمد(جدول۱). از طرف دیگر، محتوای آسکوربیک اسید در میوه‌های تیمار شده با نانوکلات کلسیم ۶ درصد در آب گرم، حدود ۲/۸ برابر میزان آن در تیمار شاهد بوده است. به طور کلی، تیمارهای نانوکلات کلسیم، تا ۲۰ درصد بهتر از تیمارهای کلرید کلسیم در افزایش میزان آسکوربیک اسید در میوه‌های پرتقال، عمل کرده است. ولتمن و همکاران (Veltman *et al*., 2000) گزارش کردند که ویتامین ث نسبت به دیگر مواد مغذی در طی فرآیند مصرف و انبارمانی به دلیل اکسیداسیون خیلی حساس به تجزیه می‌باشد. اسپیناردی (Spinardi, 2005) بیان کرد که غوطه وری کلسیم روی مقدار ویتامین ث موثر است. کلسیم با اتصال به غشاء باعث پایداری آن می‌شود و با این کار از اتصال رادیکال‌های آزاد و گونه های فعال اکسیژن به غشاء جلوگیری کرده و به حفظ سلامتی غشاهای زیستی کمک می‌کند و در واقع نقش آنتی‌اکسیدانت‌ها نظیر اسیدآسکوربیک را حفظ کرده و از تجزیه اسید آسکوربیک جلوگیری می‌کند. شفیعی و

همکاران (Shafii *et al.*, 2010) گـزارش نمودنـد کـه غوطـه وری میوه‌های توت‌فرنگی در دمای ۴۵ درجـه سلسـیوس حـاوی کلسـیم ویتامین ث را در سطح بالاتری نسبت به شاهد حفظ مـی‌کنـد کـه بـا نتایج این پژوهش در راستای حفظ بیشتر آسکوربیک اسـید بـا تیمـار نانوکلات کلسیم همسویی دارد.

نشت یونی و نشت یون پتاسیم

نتایج نشان داد که بین تیمار آب سرد و گرم شاهد بر نشت یـونی در طی انبارمانی تفاوت معنی‌دار وجود داشـت و تیمـار آب گـرم تـاثیر کمتـری بـر نشـت یـونی داشـت. اثـر بـرهمکنش زمـان انبارمـانی و تیمارهای مختلف بر نشت یونی معنی‌دار بود. در طی ۲ مـاه انبارمـانی کمترین مقدار نشت یونی (به‌ترتیب ۳۹/۷۹ و ۴۱/۸۹ درصد) در تیمـار شاهد آب سرد و کلرید کلسیم ۶ درصد همراه با آب سرد بدسـت آمـد (جدول ۱). در ۲ ماه انبارمانی، تیمارهای نانوکلات کلسیم ۳ درصـد و ۶ درصد همراه با آب گرم، به‌ترتیـب، بـیش از ۴ درصـد و بـیش از ۲ درصد، بیشتر از تیمارهای شاهد، موجب جلـوگیری از نشـت یـونی در میوه‌ها شده است. نتایج نشان داد که بین تیمـار آب سـرد و گـرم بـر نشت یون پتاسیم در طی انبار مانی تفـاوت معنـی‌دار وجـود داشـت و تیمار آب سرد تاثیر بهتری بر نشت یون پتاسیم داشت. اثر برهمکنش زمان انبارمانی و غلظـت تیمارهـای مختلـف بـر نشـت یـون پتاسـیم معنی‌دار بود. در طی ۲ ماه انبارمانی بیشترین مقدار نشت یون پتاسیم (۹۴/۱۳ درصد) در تیمار کلرید کلسـیم ۶ درصـد همـراه بـا آب گـرم بدست آمد. کمترین مقدار نشت یون پتاسیم (۶۲/۹۸ درصد) در ۴ مـاه انبارمانی در تیمار نانوکلات کلسیم ۳ درصد همراه با آب سرد بدسـت آمد (جدول ۱). در این خصوص، میزان نشت یون پتاسیم در تیمارهای کلرید کلسیم، از حدود ۱ درصد تا حدود ۴۰ درصد بیشتر از تیمارهـای نانوکلات کلسیم، گزارش شده اسـت .نشـت یـونی شاخصـی کـارا در ارزیابی میزان نفوذپذیری و سلامت غشاءها می‌باشد (Marangoni *et al.*, 1996). با افزایش مدت زمان انبارمانی نشت الکترولیت‌ها و نشت یون پتاسیم و پیش تیمار با آب گـرم و ترکیبـات کلسـیم در کـاهش شدت این شاخص‌ها مشهود بود. میر دهقان و راحمی (Mirdehghan and Rahemi, 2010) الگوی تغییرهای نشت یونی در رقم‌های انـار ملس یزدی و گل گزی ترش را گزارش کردند کـه در طـی انبارمـانی کاهش نشان داده است. نشت یونی یک شاخص اصلی برای ارزیـابی نفوذپذیری و یکپارچگی غشای یاخته‌ای است و به‌طور کلی، به‌عنوان نشانگر مهم برای میزان سرمازدگی میـوه انبارشـده در دمـای پـایین استفاده می‌شود (Wang *et al.*, 2014). افزون بر این، تنش سـرما می‌تواند پراکسیداسیون لیپید را افزایش دهد و ساختار غشـا را تغییـر دهد. بنابراین میزان افزایش نفوذپذیری غشا و افزایش نشت یـونی از نشانه‌های بافت‌های حساس به آسیب سرمایی است که به‌طور معمول پیش از پیدایش نشانه‌های سرمازدگی صورت می‌پذیرد (Lado *et al.*, 2016). در بسیاری از مطالعات نشان داده شده است که کلسـیم مـی تواند انسجام غشا پلاسمایی را بهبود بخشد و در نتیجه آسیب سرمایی را کاهش دهد (Bitencourt *et al.*, 1999).

شاخص سرمازدگی

نتایج این پژوهش نشان داد بین تیمار آب سرد و آب گـرم شـاهد بر شاخص سرمازدگی میوه پرتقال در طی انبـار مـانی تفـاوت معنـی داری بین هر دو تیمار وجود نداشت و بیشـترین درصـد سـرمازدگی را نشان دادند. اثر برهمکنش زمان انبارمانی و غلظت تیمارهای مختلـف بر شاخص سرمازدگی معنی‌دار بود. در طی ۴ مـاه انبارمـانی کمتـرین مقدارشاخص سرمازدگی (به‌ترتیـب ۰/۰۵۱ و ۰/۰۸۳درصـد) در تیمـار نانوکلات کلسیم ۳ و ۶ درصد همراه با آب گرم بدست آمد (جدول۲). به عنوان مثال، شـاخص سـرمازدگی در تیمارهـای شـاهد و نیـز تیمارهای کلرید کلسیم، به ترتیب، تا بیش از ۱۲ برابر و تا بیش از ۱۰ برابر شاخص سرمازدگی در میوه‌های تیمار شده با نانوکلات کلسیم ۳ درصد در آب گرم، اندازه‌گیری شد. در همین راسـتا، تیمـار نـانوکلات کلسیم ۶ درصد، تا بیش از ۴ برابر، بهتر از تیمارهای کلرید کلسـیم در کاهش شاخص سرمازدگی میوه‌های پرتقال، عمل کرده است. به طور کلی، شاخص سرمازدگی در دوره انبارمانی کاهش یافت و میـوه‌هـای شاهد به‌طور معنی‌داری نشانه‌های سرمازدگی بیشتری نسبت به میوه های تیمار شده نشان دادند. غشای یاخته‌ای محل اصلی بـروز آسـیب سرمازدگی در پوست میوه محسوب می‌شـود (Lado *et al.*, 2016). ربیعی و رحمانی (Rabiei and Rahmani, 2013) میوه‌های انار رقم میخوش را با آب گرم ۴۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقـه و یـا آب گرم ۵۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ ثانیه تیمـار و بـه مـدت ۴ مـاه در انبار سرد با دمای ۳ درجه سلسیوس انبار کردند و گزارش کردنـد کـه میوه های تیمار شده با آب گرم نسبت بـه میـوه‌هـای شـاهد، درصـد کاهش وزن و آسیب سرمازدگی کمتری داشتند و میـزان تاثیرگـذاری مثبت تیمار آب گرم ۴۵ درجه سلسیوس بیش‌تر بود. وانگ و همکاران (Wang *et al.*, 2012) گزارش کردند که تیمار آب گرم سبب کاهش میزان آسیب سـرمازدگی میـوه‌هـای تیمـار شـده مـوز پـس از ۵ روز انبارمانی در دمای ۷ درجه سلسیوس شد. به‌طور مشابه، با اعمال تیمار آب گرم میزان آسیب سرمازدگی در میوه‌های گریپ فروت انبار شـده در دمای ۲ درجه سلسیوس کاهش یافـت (Sapitnitskaya *et al.*, 2006). در بررسی روی میوه آووکادو گزارش شـده اسـت کـه شـدت علائم مشاهده شده سرمازدگی با اسـتفاده از ذرات کلسـیم از طریـق نفوذ تحت خـلاء کلریـد کلسـیم کـاهش یافـت (Chaplin *et al.*, 1980).

جدول ۱- برهمکنش مدت زمان انبارمانی و تیمارهای مختلف کلسیم بر برخی خصوصیات میوه پرتقال رقم 'محلی داراب'

Table 1- The interaction effect between the duration of storage and different calcium treatments on some fruit characteristics of sweet orange cv. Mahali Darab

تیمار Treatment	انبارمانی Storage (month)	کاهش وزن Weight Loss (%)	مواد جامد محلول TSS (%)	اسیدیته کل Total acidity (%)	سفتی بافت Tissue firmness (Newton's)	آسکوربیک اسید Ascorbic acid	نشت یونی Ionic leakage (%)	نشت یون پتاسیم Potassium leakage (%)
شاهد آب سرد[1] Control cold water	۲	6.38b-e	12.43d-f	0.742 b	29.80 fg	28.42 h	39.79 i	86.62 c
	۴	4.88fg	13.63cd	0.721 bc	24.97 g	21.15 i	65.93 bc	67.23 k
شاهد آب گرم[2] Control warm water	۲	7.00b	14.66a-c	0.737 b	35.68 c-f	38.27 gh	48.24 f-h	83.48 d
	۴	4.86fg	15.33a	0.630 d	34.51 d-f	27.66 k	48.10 f-h	63.67 l
کلرید کلسیم ۳ درصد آب سرد Calcium chloride 3% cold water	۲	6.17b-e	15.10ab	0.633 d	33.55 ef	50.64 fg	48.10 f-h	80.31 fg
	۴	5.32e-g	15.73a	0.623 de	35.31 c-f	47.78 g	70.01 a	72.68 ij
کلرید کلسیم ۳ درصد آب گرم Calcium chloride 3% warm water	۲	4.26g	12.80de	0.677 c	42.40 bc	78.32ab	48.76 fg	77.74 h
	۴	5.42d-f	13.70b-d	0.593 e	39.01 b-f	74.16 b	57.60 d	82.63de
کلرید کلسیم ۶ درصد آب سرد Calcium chloride 6% cold water	۲	6.27b-e	12.00ef	0.613 bc	40.01 b-e	69.77 d	41.89 i	80.97 fg
	۴	5.40ef	15.56a	0.573 f	36.73 c-f	64.21 d	59.55 d	90.97 b
کلرید کلسیم ۶ درصد آب گرم Calcium chloride 6% warm water	۲	14.47a	10.36g	0.713 bc	45.85 ab	79.07 ab	48.83 f-h	94.13 a
	۴	5.96b-f	15.83a	0.567 f	45.51 ab	75.16bc	69.86 a	72.49 ij
نانوکلات کلسیم ۳ درصد آب Calcium nanochelate 3% cold water	۲	2.38h	11.96ef	0.662 c	41.66 b-d	61.24 de	51.30 e	57.50 m
	۴	5.67c-f	11.06fg	0.594 e	39.78 b-e	55.01 e	69.11 a	62.98 l
نانوکلات کلسیم ۳ درصد آب گرم Calcium nanochelate 3% warm water	۲	1.93h	10.36g	0.740 b	52.28 a	80.59 a	46.15 h	79.75 g
	۴	6.60bc	8.80h	0.580 ef	49.78 a	75.71bc	63.58 c	81.58 ef
نانوکلات کلسیم ۶ درصد آب سرد Calcium nanochelate 6% cold water	۲	2.80h	11.90ef	0.633 d	39.68 b-e	76.65 ab	49.69 ef	80.04 g
	۴	6.88b	12.80de	0.583 f	38.89 b-f	66.09d	68.58 a	66.65 k
نانوکلات کلسیم ۶ درصد آب گرم Calcium nanochelate 6% warm water	۲	2.90h	11.40e-g	0.786 a	39.79 b-e	78.18 ab	47.05 gh	71.86 j
	۴	6.53b-d	10.30g	0.693 c	41.95 bc	76.15 b	66.11 b	73.59 i

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف‌های مشابه هستند، در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند.

۱= آب سرد ۲۰ درجه سلسیوس؛ ۲= آب گرم ۴۵ درجه سلسیوس.

In each column, the means that have similar letters are not significantly different at the 5% of probability level based on LSD test.

1 = Cold water 20 degrees Celsius; 2= Hot water 45 degrees Celsius.

جدول ۲- برهمکنش مدت زمان انبار مانی × تیمارهای مختلف کلسیم بر برخی خصوصیات میوه پرتقال رقم 'محلی داراب'

Table 2- The interaction oreffect the storage during different calcium treatments on some fruit characteristics of sweet orange cv. Mahali Darab

تیمار Treatment	انبارمانی Storage (month)	شاخص سرمازدگی (%)	کاتالاز Catalase (%)	پراکسیداز(واحد آنزیم در دقیقه در گرم وزن-تر) Peroxidase	L*	زاویه فام Hue°	کروما Chroma	مالون دی آلدئید (میکرومول در هر گرم وزن تازه) Malondialdehyde
شاهد آب سرد[1] Control cold water	۲	0.617 ab	0.436 ef	0.290 ghi	51.252 defg	71.934 cde	56.972 cdefgh	0.0525 c
	۴	0.641 a	0.253 i	0.239 hi	54.820 def	73.278 bc	59.186 cdef	0.0439 gh
شاهد آب گرم[2] Control warm water	۲	0.585 bc	0.277 hi	0.285 ghi	50.642 efgh	51.395 f	51.967 ghij	0.0568 b
	۴	0.633 ab	0.385 efg	0.213 hi	49.933 efgh	73.101 bcd	55.310 defghi	0.0428 h
کلرید کلسیم ۳ درصد آب سرد Calcium chloride 3% cold water	۲	0.583 bc	0.351fgh	0.619 d	52.933 efgh	72.135 cde	58.017 cdefg	0.0594 b
	۴	0.550 cd	0.717 c	0.756 c	61.975 ab	71.582 cde	67.729 a	0.0482 de
کلرید کلسیم ۳ درصد آب گرم Calcium chloride 3% warm water	۲	0.516 d	0.301 ghi	0.421 ef	50.767 efgh	75.268 a	57.243 cdefgh	0.0456 efg
	۴	0.513 d	0.571 c	1.019 ab	63.743 a	74.850 ab	68.090 a	0.0440 gh
کلرید کلسیم ۶ درصد آب سرد Calcium chloride 6% cold water	۲	0.518 d	0.318 ghi	0.385 efg	50.287 efgh	73.038 bcd	53.530 efghij	0.0537 c
	۴	0.116 gh	0.437 ef	0.942 b	61.050 abc	72.221 cde	64.721 ab	0.0485 d
کلرید کلسیم ۶ درصد آب گرم Calcium chloride 6% warm water	۲	0.549 cd	0.446 e	0.459 e	49.372 fgh	73.241 bc	54.393 defghij	0.0571 b
	۴	0.166 efg	1.532 a	0.952 b	56.712 bcd	75.266 a	60.166 bcd	0.0467 def
نانوکلات کلسیم ۳ درصد آب Calcium nanochelate 3% cold water	۲	0.212 e	0.301 ghi	0.165 i	49.262 fgh	71433 cde	51.074 hij	0.0571 b
	۴	0.202 ef	0.768 c	0.430 ef	64.500 a	74.404 ab	62.584 abc	0.0485 d
نانوکلات کلسیم ۳ درصد آب گرم Calcium nanochelate 3% warm water	۲	0.152 fg	0.961b	0.643 cd	48.862 gh	71.194 de	52.877 fghij	0.0591 b
	۴	0.051i	1.015 b	1.106 ab	61.120 ab	72.446 cde	59.888 bcde	0.0479 de
نانوکلات کلسیم ۶ درصد آب سرد Calcium nanochelate 6% cold water	۲	0.161 efg	0.297 ghi	0.323 fgh	45.077 h	71.792 cde	48.954 ij	0.0517 c
	۴	0.116 gh	0.981b	0.455 ef	56.957 bcd	70.977 e	48.463 j	0.0451 fgh
نانوکلات کلسیم ۶ درصد آب گرم Calcium nanochelate 6% warm water	۲	0.133 gh	0.749 c	1.01 ab	52.883 defg	74.850 ab	52.092 ghij	0.0637 a
	۴	0.083 hi	0.971 b	1.137 a	55.253 cde	72.149 cde	48.019 j	0.0424 h

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف‌های مشابه هستند، در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند.

۱= آب سرد ۲۰ درجه سلسیوس؛ ۲= آب گرم ۴۵ درجه سلسیوس.

In each column, the means that have similar letters are not significantly different at the 5% of probability level based on LSD test.

1 = Cold water 20 degrees Celsius; 2= Hot water 45 degrees Celsius

آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز

نتایج این پژوهش نشان داد بین تیمار آب سرد و آب گرم شاهد بر آنزیم کاتالاز در طی انبار مانی تفاوت معنی‌داری بین هر دو تیمار وجود داشت. اثر برهمکنش زمان انبارمانی و غلظت تیمارهای مختلف بر آنزیم کاتالاز معنی‌دار بود. در طی ۴ ماه انبارمانی فعالیت آنزیم افزایش نشان داد به‌طوری‌که بیشترین مقدار آنزیم کاتالاز (۱/۵۳۲ واحد آنزیم در دقیقه در گرم وزن تر) در تیمار کلرید کلسیم ۶ درصد همراه با آب گرم بدست آمد. کمترین مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز بین تیمارهای کلسیم در طی انبارمانی در تیمارهای کلرید کلسیم ۳ درصد همراه با آب سرد و آب گرم و نانوکلات کلسیم ۶ درصد همراه با آب سرد بدست آمد (جدول ۲). نتیجه‌های این پژوهش نشان داد بین تیمار آب سرد و آب گرم (شاهد) بر آنزیم پراکسیداز در طی انبارمانی تفاوت معنی‌داری بین هر دو تیمار وجود نداشت. اثر برهمکنش زمان انبارمانی و غلظت تیمارهای مختلف بر آنزیم پراکسیداز معنی‌دار بود. در طی ۴ ماه انبارمانی فعالیت آنزیم افزایش نشان داد به‌طوری‌که بیشترین مقدار آنزیم (به‌ترتیب، ۱/۱۳۷ و ۱/۰۱۹ واحد آنزیم در دقیقه در گرم وزن تر) در تیمار نانوکلات کلسیم ۶ درصد همراه با آب گرم و کلرید کلسیم ۳ درصد همراه با آب گرم بدست آمد. کمترین مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز (۰/۱۶۵ واحد آنزیم در دقیقه در گرم وزن تر) بین تیمارهای کلسیم در طی ۲ ماه انبارمانی در تیمار نانوکلات کلسیم ۳ درصد همراه با آب سرد بدست آمد (جدول ۲). نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم‌ها در طی دوره انبارمانی افزایش نشان داده است. آنزیم های آنتی‌اکسیدانی تشکیل رادیکال آزاد را متوقف و ممکن است سبب توقف زنجیره واکنش‌های اکسیداسیون و کاهش آسیب رادیکال‌های آزاد شود و ممکن است انرژی رادیکال‌های آزاد را کاهش داده و یا سبب اتصال الکترون به آنها شده و آنها را پایدار نمایند (Yousefpour Dokhanieha *et al*., 2013). میوه‌های انار تیمار شده با کلسیم در مقایسه با میوه‌های شاهد فعالیت بسیار بالاتری از آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و فعالیت کمتری از پراکسیداز را نشان می‌دهند. نتایج نشان می‌دهد که آنزیم‌های آنتی اکسیدانی باعث ایجاد مقاومت در برابر سرمازدگی در میوه‌های انار می‌شوند (Ramezanian and Rahemi, 2011). مطالعه ایل هالالی و همکاران (EL-Hallali *et al*., 2003) نشان داد که یون کلسیم باعث کاهش آسیب سرمایی و فعالیت پراکسیداز در گوشت و پوست میوه‌های دخیره شده در انبار سرد می‌شود. رانادیو و هارد (Ranadive and Haard, 1972) ارتباطی بین فعالیت پراکسیداز و لیگنینی شدن[1] در دیواره سلولی میوه‌ها شناسایی کردند. به نظر می‌رسد که یون کلسیم برای فعالیت پراکسیداز ضروری است زیرا باعث ایجاد اتصال متقاطع از زنجیره‌های پلی گالاکترون[2] به ساختاری می‌شود که توسط ایزوپراکسیداز[3] قابل شناسایی است (Bagheri *et al*., 2015; Penel *et al*., 1999). بیشترین مقدار آنزیم کاتالاز در تیمارهای ترکیبات کلسیم نسبت به شاهد بدست آمد. گزارش شده است که تیمارهای کلسیم فعالیت بالای کاتالاز را در ازگیل ژاپنی (Akhtar *et al*., 2010) و زردالو (Ali *et al*., 2013b) در طی انبارمانی سرد حفظ می‌کند. کاهش نشت یونی از طریق تیمار کلسیم باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، یکپارچگی و استحکام دیواره سلولی می‌شود (Mortazavi *et al*., 2007).

رنگ پوست میوه (L*، زاویه هیو و کروما)

نتایج این پژوهش نشان داد بین تیمار آب سرد و آب گرم شاهد بر L* و کروما در طی انبار مانی تفاوت معنی‌داری بین هر دو تیمار وجود نداشت اما برای میزان زاویه فام در ۲ ماه انبارمانی در آب گرم کمتر بود.

بیشترین مقدار L* در تیمار کلرید کلسیم ۳ درصد همراه با آب گرم (۶۳/۷۴۳) و نانوکلات کلسیم ۳ درصد همراه با آب سرد و آب گرم (به‌ترتیب ۶۴/۵۰۰ و ۶۱/۱۲۰) در طی ۴ ماه انبارمانی بدست آمد. کمترین مقدار L* بین تیمارهای کلسیم در طی انبارمانی بین تیمارها متغییر بود (جدول ۲). بیشترین مقدار زاویه هیو در طی ۲ ماه انبارمانی در تیمارکلرید کلسیم ۳ درصد همراه با آب گرم (۷۲/۲۶۸) وتیمار کلرید کلسیم ۶ درصد همراه با آب گرم (۷۵/۲۶۶) طی ۴ ماه انبارمانی بدست آمد و کمترین میزان زاویه هیو (۷۰/۹۷۷) در تیمار نانوکلات کلسیم ۶ درصد همراه با آب سرد در طی ۴ ماه انبارمانی بدست آمد. بیشترین مقدار کروما (به‌ترتیب۶۸/۰۹۰ و ۶۷/۷۲۹) در طی ۴ ماه انبارمانی در تیمارهای کلرید کلسیم ۳ درصد همراه با آب گرم و سرد بدست آمد. کمترین میزان کروما (به‌ترتیب ۴۸/۰۱۹ و ۴۸/۴۶۳) درطی۴ ماه انبارمانی در تیمار نانوکلات کلسیم ۶ درصد همراه با آب گرم و سرد بدست آمد (جدول ۲). رنگ یکی از مهمترین ویژگی‌های ارزیابی عمر پس از برداشت و کیفیت میوه‌ها است. شاخص L* به عنوان شاخص روشنايي، a* به‌عنوان شاخص تمایل رنگ بین سبز و قرمز و b* به عنوان شاخص تمایل رنگ بین آبی و زرد هستند و به عنوان شاخص‌هایی برای ارزیابی تفاوت رنگ کل میوه محسوب می-گردند. شاخص کروما به‌عنوان مقدار اشباع‌شدگی و شدت رنگ و مقدار زاویه هیو (Hue°) به‌عنوان شاخص‌های از رنگ محسوب می‌گردد

[1]- Lignification

[2]- Polygalacturonan chains

[3]- Isoperoxidase

که مقدارهای آن از زاویه صفر یا ۳۶۰ درجه نشان‌دهنده رنگ قرمز و زاویه‌های ۹۰، ۱۸۰ و ۲۷۰ به‌ترتیب بیانگر رنگ‌های زرد، سبز و آبی می‌باشد (Giménez *et al*., 2016). نتیجه‌های بدست آمده نشان دادند که تیمارها بر رنگ پوست میوه پرتقال اثر معنی‌دار داشتند. تیمار کلرید کلسیم همراه با آب گرم بهتر از تیمار نانوکلسیم به همراه آب گرم سبب افزایش شاخص‌های رنگ در میوه پرتقال در طی انبارمانی گردید. دلیل کاهش L*، زاویه هیو و کروما در میوه‌های شاهد می‌تواند به دلیل سرمازدگی باشد که از روشنایی میوه‌ها کاسته و با تیره‌تر شدن رنگ پوست زاویه هیو و کروما کاهش یافت (Giménez *et al*., 2016). میوه مرکبات نافرازگرا هستند و در طی رسیدن و بلوغ سرعت تنفس و سطح تولید اتیلن کمی دارند، اما پوست میوه از این فرایند پیروی نمی‌کند و تغییرهای رسیدن پس از برداشت همچنان در پوست میوه رخ می‌دهد. در مرکبات با گذر زمان سبزینه خود را از دست می‌دهند و رنگ‌های کاروتنوئیدی که زیر پوست قرار دارند ظاهر می‌شوند (Ramezanian *et al*., 2018).

جدول ۳- برهمکنش مدت زمان انبارمانی × تیمارهای مختلف کلسیم بر میزان کلسیم گوشت و پوست میوه پرتقال رقم 'محلی داراب'

Table 3- The interaction effect of the storage duration× different calcium treatments on the amount of calcium in the flesh and skin of the fruit (mg.g^{-1} dry weight)

تیمار Treatment	انبارمانی Storage(month)	کلسیم گوشت Calcium content of fruit flesh	کلسیم پوست Calcium content of fruit skin
شاهد آب سرد[1] Control cold water	۲	15226j	21113j
	۴	11533.3k	15227k
شاهد آب گرم[2] Control warm water	۲	19400i	21667j
	۴	13133.3k	21517j
کلرید کلسیم ۳ درصد آب سرد Calcium chloride 3% cold water	۲	22561.7h	24550hi
	۴	19643.7i	22417ij
کلرید کلسیم ۳ درصد آب گرم Calcium chloride 3% warm water	۲	22761.7gh	26433f-h
	۴	24816.7f	24903hi
کلرید کلسیم ۶ درصد آب سرد Calcium chloride 6% cold water	۲	23730fh	28917ef
	۴	25500f	24483hi
کلرید کلسیم ۶ درصد آب گرم Calcium chloride 6% warm water	۲	24620fg	32767d
	۴	25050f	26083gh
نانوکلات کلسیم ۳ درصد آب Calcium nanochelate 3% cold water	۲	25650ef	35570c
	۴	27800d	28312e-g
نانوکلات کلسیم ۳ درصد آب گرم Calcium nanochelate 3% warm water	۲	29946.7c	37750bc
	۴	27566.7de	30233de
نانوکلات کلسیم ۶ درصد آب سرد Calcium nanochelate 6% cold water	۲	33916.7b	42867a
	۴	29333.7cd	37013bc
نانوکلات کلسیم ۶ درصد آب گرم Calcium nanochelate 6% warm water	۲	36756.7a	44183a
	۴	36756.7a	39683b

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف‌های مشابه هستند، در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند.

۱= آب سرد ۲۰ درجه سلسیوس؛ ۲= آب گرم ۴۵ درجه سلسیوس.

In each column, the means that have similar letters are not significantly different at the 5% of probability level based on LSD test.

1 = Cold water 20 degrees Celsius; 2= Hot water 45 degrees Celsius.

گزارش شده است که کلسیم با به تاخیر انداختن پیری بـر مقـدار رنگ پوست اثر می‌گذارد. میـوه‌هـای تیمـار شـده بـا کلریـد کلسـیم روشنایی، زاویه هیو وکرومای بیشتری نسبت به میوه‌های دیگـر و بـه ویژه شاهد داشتند که می‌تواند نشان دهنده کاهش سرعت بلوغ توسط کلسیم باشد (Dadger *et al.*, 2016).

محتوای مالون دی آلدهید (MDA) پوست میوه

نتایج این پژوهش نشان داد بین تیمار آب سرد و آب گرم شـاهد بر محتوای مالون دی آلدهید در طی انبار مانی تفاوت معنی‌داری بـین هر دو تیمار وجود داشـت. اثـر بـرهمکنش زمـان انبارمـانی و غلظـت تیمارهای مختلف بر محتوای مالون دی آلدهید معنی‌دار بود. کمتـرین مقدار محتوای مالون دی آلدهید (۰/۰۴۲۴ میکـرو مـول در هـر گـرم وزن تازه) بین تیمارهـای کلسـیم در طـی ۴ مـاه انبارمـانی در تیمـار نانوکلات کلسیم ۶ درصد همراه با آب گرم بدست آمد (جدول ۲).

پس از طی ۱۲۰ روز دوره انبارمانی بین میزان مالون دی آلدهیـد پوست در میوه‌های شاهد و تیمار شده تفاوت معنـی‌دار مشـاهده شـد. میزان مالون دی آلدهید در میوه‌های تیمار شده به‌خصوص نانوکلسیم همراه با آب گرم کمتر بود. از آنجایی‌که بیشترین فعالیت آنـزیم‌هـای آنتی‌اکسیدانی در تیمـار نـانوکلات کلسـیم ۶ درصـد حاصـل گردیـد بنابراین این تیمار توانست کمترین محتوای مالون دی‌آلدئید را نشـان دهد. کلسیم از طریق حفظ ماهیت و یکپارچگی غشـا سـبب کـاهش نشت یونی و فسفولیپید در شبکه سـلولی مـی‌شـود (Amini *et al.*, 2016). تیمار کلسیم نه تنها ساختار غشاء را تحت تاثیر قرار مـی‌دهـد بلکه می‌تواند در انتقال سـیگنال اکسـیداتیو و تنظـیم کـردن فعالیـت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش داشته باشد (Jiang & Huang *et al.*, 2001). این موید کارا بودن پیش تیمـار آب گـرم و کلسـیم در حفـظ ساختار یاخته‌ای وکیفیت پوست میوه‌ها در طی انبارمانی سرد می‌باشد. در واقع میزان پراکسیداسیون چربی‌ها و مقـدار مـالون دی آلدهیـد در واکنش به سرمازدگی بافت‌ها افزایش می‌یابند و پیش‌تیمارهای موثر با ایجـاد مقاومـت مـی‌تواننـد از میـزان بـروز ایـن فراینـدها بکاهنـد (Taghipour *et al.*, 2019). مـا و همکـاران (Ma *et al.*, 2014) گزارش کردند که اعمال پیش تیمار آب گرم ۴۵ درجه سلسیوس برای مدت ۱۰ دقیقه پـیش از انبارمـانی مـی‌توانـد در کـاهش نشـانه‌هـای سرمازدگی در میوه‌های کیوی موثر باشـد. میـوه‌هـای تیمـار شـده از سفتی بیشتر و نرخ تولید اتیلن و محتوای مـالون دی آلدهیـد کـم‌تـر برخوردار بودند.

کلسیم گوشت و پوست میوه

با توجه به جدول ۳، نتایج نشان داد که میزان کلسیم گوشت میوه کمتر از پوسـت در طـی ۱۲۰ روز انبـار مـانی بـود و تیمـار ۶ درصـد نانوکلات کلسیم پـس از ۶۰ روز انبارمـانی بیشـترین میـزان کلسـیم گوشت و پوست میوه (به‌ترتیب ۳۶۷۵۶/۷ و ۴۴۱۸۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) را نشـان داد. اگرچـه بـا تیمارهـای ۳ درصـد نـانوکلات کلسـیم پـس از ۶۰ روز در پوسـت و ۶ درصـد نـانوکلات کلسـیم در گوشت پس از ۱۲۰ روز انبارمانی اخـتلاف معنـی‌داری را نشـان نـداد. میزان کلسیم در گوشت و پوست میـوه در تیمـار نـانوکلات ۶ درصـد همراه با آب گرم، به‌ترتیب، ۲/۸ برابر (در انبارمانی ۴ ماهه) و حـدود ۲ برابر (در انبارمانی ۲ ماهه) مقدار آن در تیمارهای شاهد، گزارش شـده است. در این رابطه، میزان عنصر غذایی کلسـیم در گوشـت و پوسـت میوه پرتقال در تیمار نانوکلات کلسیم ۶ درصد، به‌ترتیب، بـیش از ۴۹ و تا بیش از ۵۲ درصد، بیشتر از تیمارهای کلریدکلسیم بوده اسـت. بـا توجه به نتایج پژوهش حاضرکاربرد کودهای نانو کـلات کلسـیم کـه سبب افزایش میزان کلسیم طی دوره انبارمانی نسبت به کلرید کلسیم شده می‌تواند بدلیل تکنولوژی نانو بوده که سبب افزایش نسبت سطح به حجم شده و نفوذ بیشتر و میزان جذب کلسیم را افزایش داده است (Ranjbar *et al.*, 2018). بـه‌طـور کلـی، تیمـار نـانوکلات کلسـیم توانست در غنی‌سازی کلسیم پوست و گوشت میوه نسـبت بـه شـاهد موثرتر باشد

نتیجه‌گیری

از مجموع یافته‌های این پژوهش استنباط می‌شود کـه در شـرایط انبارمانی سرد با دمای ۰/۵±۲ درجه سلسـیوس و رطوبـت نسـبی ۸۵ درصد می‌توان تا مدت دو ماه میوه‌های پرتقال رقم محلـی بـا کـاربرد تیمار دمایی همراه با ترکیبات کلسیم بدون کاهش کیفیـت نگهـداری نمود. پس از چهار ماه انبارمانی سرد افزایش معنی‌دار و قابـل تـوجهی در میزان آب از دسـت دهـی میـوه‌هـا، نشـانه‌هـای ظـاهری آسـیب سرمازدگی، نشت الکترولیت‌ها و محتوای مـالون دی آلدهیـد پوسـت میوه‌های انبار شده اتفاق می‌افتد. یکی از اصلی‌ترین خسارات وارده در طی انبارداری کاهش وزن در میوه‌هـا مـی‌باشـد، نـانوکـلات کلسـیم کمترین کاهش وزن را در دو ماه انبارداری نسبت بـه تیمـار شـاهد و کلرید کلسیم نشان داد. با توجه به این که عنصر کلسیم از مهم‌تـرین عوامل تاثیرگذار بر ماندگاری و افزایش عمر انبارداری میوه‌ها محسوب می‌شود، تیمار نانو کلات ۳ و ۶ درصد نسبت به شاهد و کلرید کلسیم گزینه مناسبی جهت غنی‌سازی این عنصر در میوه‌ها شناخته شـد. در رابطه با مالون دی‌آلدئید که محصول پراکسیداسیون چربی غشاء مـی باشد و نیز میزان مواد جامد محلول که در زمان رسیدن میوه و در طی

روند پیری افزایش می‌یابد، میوه‌های تیمار شده در نانوکلات کلسیم، حاوی کمترین میزان TSS و مالون دی‌آلدئید بوده است. میزان آسکوربیک اسید در تیمار نانو کلسیم ۳ و ۶ درصد و میزان سفتی بافت در تیمار نانوکلات کلسیم ۳ درصد پس از دو ماه انبارداری بیشتر از شاهد و کلرید کلسیم برآورد شد. نانوکلات کلسیم ۶ درصد میزان کلسیم گوشت و پوست میوه را بدلیل افزایش نفوذپذیری بهبود بخشید. پیش تیمار آب گرم به همراه ترکیبات کلسیم به دلیل بهبود و تخفیف شدت افزایش شاخص‌های مرتبط با بروز آسیب سرمازدگی در پوست میوه‌ها تیماری کارا و قابل توصیه به منظور نگهداری میوه‌های پرتقال در شرایط انبارمانی سرد است. بنابراین با توجه به یافته‌های این پژوهش، تیمارهای نانوکلات کلسیم را می‌توان به‌عنوان مناسب ترین تیمار به منظور غنی‌سازی کلسیم میوه و افزایش عمر انبارداری پرتقال پیشنهاد کرد.

سپاسگزاری

از دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز برای در اختیار گذاشتن امکانات لازم برای انجام این پژوهش و نیز از مدیریت شرکت دانش بنیان صدور احرار شرق، برای مساعدت بی‌دریغشان در زمینه انجام این پژوهش، تشکر و قدرانی می‌شود.

منابع

1. Ahmadi, K., Ebadzadeh, H. M., Hatami, F., Hosseinpour, R., & Abdshah, H. (2018). *Agricultural statistics of Horticultural products*. Published by Laleh Yasan, Ministry of Agricultural Jihad. Planning and Economic Vice President, Information and Communication Technology Center, 3: 215 p. 9789644670978. https://www.gisoom.com/book/11660788/3
2. Akhtar, A., Abbasi, N.A., & Hussain, A.Z.H.A.R. (2010). Effect of calcium chloride treatments on quality characteristics of loquat fruit during storage. *Pakistan Journal of Botany*, *42*(1), 181-188.
3. Ali, S., Masud, T., Abbasi, K.S., Mahmood, T., Abbasi, S., & Ali, A. (2013a). Influence of $CaCl_2$ on physico-chemical, sensory and microbial quality of apricot cv. Habi at ambient storage. *Journal of Chemical Biological and Physical Science*, *3*, 2744–2758. https://doi.org/10.3923/pjn.2013.476.483
4. Ali, S., Masud, T., Abbasi, K.S., Mahmood, T., & Hussain, I. (2013b). Influence of CaCl^ sub^ on Biochemical Composition, Antioxidant and Enzymatic 2 Activity of Apricot at Ambient Storage. *Pakistan Journal of Nutrition*, *12*(5), 476.483.
5. Amini, F., Bayat, L., & Hosseinkhani, S. (2016). Influence of preharvest nano- calcium applications on postharvest of sweet pepper (*Capsicum annum*). *Nusantara Bioscience*, *8*(2), 215–220. https://ssrn.com/abstract=3634895
6. AOAC. (2000). *Vitamins and other nutrients, official methods of analysis* (17^{th} Ed.). Washington, D.C. AOAC International pp. 16-20.
7. Atrash, S., Ramezanian, A., Rahemi, M., Ghalamfarsa, R.M., & Yahia, E. (2018). Antifungal effects of savory essential oil, gum arabic, and hot water in Mexican lime fruits. *HortScience*, *53*(4), 524-530. https://doi.org/10.21273/HORTSCI12736-17
8. Bagheri, M., Esna-Ashari, M., & Ershadi, A. (2015). Effect of postharvest calcium chloride treatment on the storage life and quality of persimmon fruits (*Diospyros kaki* Thunb.) cv.'Karaj'. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, *2*(1), 15-26. https://doi.org/10.22059/ijhst.2015.54260
9. Bitencourt, D., Souza, A.L., Quintao Scalon, S.D.P., Chitarra, M.I.F., & Chitarra, A.B. (1999). Postharvest application of $CaCl_2$ in strawberry fruits (*Fragaria ananassa* Dutch cv. Sequoia): evaluation of fruit quality and postharvest life. *Cienc. Agrotechnology*, *23*, 841-848.
10. Chance, B., & Maehly, A.C. (1955). Assay of catalases and peroxidases. *Methods of Enzymology, 11*, 764-755. https://doi.org/10.1002/9780470110171
11. Chaplin, G.R., & Scott, K.J. (1980). Association of Calcium in Chilling Injury Susceptibility of Stored Avocados1. *HortScience*, *15*(4), 514-515. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.15.4.514
12. Chuni, S.H., Awang, Y., & Mohamed, M.T. (2010). Cell wall enzymes activities and quality of calcium treated fresh-cut red flesh dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus). International Journal of Agriculture and Biology*, *12*, 713–718.
13. Cordenunsi, B.R., Nascimento, J.D., & Lajolo, F.M. (2003). Physico-chemical changes related to quality of five strawberry fruit cultivars during cool-storage. *Food Chemistry*, *83*, 167–173.
14. Dadger, R., Ramzanian, A., & Habibi F. (2016). Improving the quality characteristics of Washington Novel orange by spraying calcium chloride, potassium chloride and salicylic acid. *Journal of Horticultural Sciences and Techniques of Iran*, *18*(1), 1-14. (In Persian with English abstract)
15. Davarpanah, S., Tehranifar, A., Abadía, J., Valb, J., Davarynejad, G.H., Aranc, M., & Khorassanid, R. (2018). Foliar calcium fertilization reduces fruit cracking in pomegranate (*Punica granatum* cv. Ardestani). *Scientia Horticiturae*, *230*, 86-91. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.11.023
16. Deng, L.L. Zhou, Y.H., & Zeng, K.F. (2015). Pre-harvest spray of oligochitosan induced the resistance of

harvested navel oranges to anthracnose during ambient temperature storage, *Crop Protection, 70,* 70-76. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.01.016

17. Dhindsa, R.S., Plumb-Dhindsa, P.A.M.E.L.A., & Thorpe, T.A. (1981). Leaf senescence correlated with increased level of membrane permeability, lipid peroxidation and decreased level of SOD and CAT. *Journal of Experimental Botany*, *32*(1), 93-101. https://doi.org/10.1093/jxb/32.1.93
18. Dong, F., & Wang, X. (2018). Guar gum and ginseng extract coatings maintain the quality of sweet cherry. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie(LWT), 89*, 117-122. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.035
19. El-Hilali, F., Ait-Oubahou, A., Remah, A., & Akhayat, O. (2003). Chilling injury and peroxidase activity changes in "Fortune" mandarin fruit during low temperature storage. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, *29*(1-2), 44-54.
20. Ghafir, S.A.M., Gadalla, S.O., Murajei, B.N., & El-Nady, M.F. (2009). Physiological and anatomical comparison between four different apple cultivars under cold storage conditions. *African Journal of Plant Science*, *3*, 133–138.
21. Giménez, M.J., Valverde, J.M., Valero, D., Zapata, P.J., Castillo, S., & Serrano, M. (2016). Postharvest methyl salicylate treatments delay ripening and maintain quality attributes and antioxidant compounds of 'Early Lory'sweet cherry. *Postharvest Biology and Technology, 117*, 102-109. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.02.006
22. Gooderzi, F. (2017). The effect of post-harvest application of calcium salts on the quality and shelf life of strawberries. *Agricultural Sciences and Techniques and Natural Resources*, *12*(46), 231-240. (In Persian with English abstract)
23. Habibi, F., & Ramezanian, A. (2017).Vacuum in filtration of putrescine enhances bioactive compounds and maintains quality of blood orange during cold storage, *Food Chemistry*, *227*, 1-8. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.057
24. Heath, R.L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *125*(1), 189–198. https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1
25. Hirschi, K.D. (2004). The calcium conundrum. Both versatile nutrient and specific signal. *Plant Physiology*, *136*(1), 2438-2442. https://doi.org/10.1104/pp.104.046490
26. Hussain, P.R., Meena, R.S., Dar, M.A., & Wani, A.M. (2012). Effect of postharvest calcium chloride dip treatment and Gamma irradiation on storage quality and shelf-life extension of 'Red Delicious' apple. *Journal of Food Science and Technology*, *94*, 415–426. https://doi.org/10.1007/s13197-011-0289-0
27. Ishaq, S., Rathore, H. A., Masud, T., & Ali, S. (2009). Influence of postharvest calcium chloride application, ethylene absorbent and modified atmosphere on quality characteristics and shelf life of apricot (*Prunus armeniaca* L.) Fruit during storage. *Pakistan Journal of Nutrition*, *8*, 861–865.
28. Jiang, Y., & Huang, B. (2001). Effects of calcium on antioxidant activities and water relations associated with heat tolerance in two cool-season grasses. *Journal of Experimental Botany*, *52*(355), 341-349. https://doi.org/10.1093/jexbot/52.355.341
29. Kader, A.A., & Arpaia, M.L. (2002). Postharvest handling systems: Subtropical fruits. *In Postharvest Technology of Horticultural* Crops; Kader, A.A., Ed.; Regents of the University of California, Division of Agricultural and Natural Resources: Oakland, CA, USA.
30. Kahramano˘ glu, I.(2017). Introductory chapter:.Postharvest physiology and technology of horticultural crops. In Postharvest Handling; Kahramano˘ glu, I., Ed.; InTech Open: London, UK.
31. Kelebek, H., Selli, S., Canbas, A., & Cabaroglu, T. (2009). HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic compositions and antioxidant capacity of orange juice and orange wine made from a Turkish cv. Kozan. *Microchemical Journal*, *91*(2), 187-192. https://doi.org/10.1016/j.microc.2008.10.008
32. Klein, J.D., & Lurie, S. (1994). Time, temperature and calcium interact in scald reduction and firmness retention in heated apples. *HortScience*, *29*, 194-195. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.29.3.194
33. Klimczak, I., Malecka, M,.Szlachta, M., & Gliszczynska-Swiglo, A. (2007). Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices, *Journal of Food Composition and Analysis, 20*, 313–322. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.02.012
34. Lado, J., Rodrigo, M.J., López-Climent, M., Gómez-Cadenas, A., & Zacarías, L. (2016). Implication of the antioxidant system in chilling injury tolerance in the red peel of grapefruit. *Postharvest Biology Technology, 111*, 214-223. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.09.013
35. Lamikanra, O., & Watson, M.A. (2004). Effect of Calcium treatment temperature on fresh-cut Cantaloupe Melon during storage. *Food Chemistry Technology, 69*, 468-472. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb10990.x
36. Lee, R.C., Hrmova, M., Burton, R.A., Lahnstein, J., & Fincher, G.B. (2003). Bifunctional family 3 glycoside hydrolases from barley with a-L-arabinofuranosidase and b-D-xylosidase activity. *Journal of Biological Chemistry, 278*, 5377–5387. https://doi.org/10.1074/jbc.M21062720

37. Lurie, S., & Klein, J.D. (1991). Acquisition of low-temperature tolerance in tomatoes by exposure to high-temperature stress. *Journal of the American Society for Horticultural Science, 116*(6), 1007-1012. https://doi.org/10.21273/JASHS.116.6.1007
38. Ma, Q., Suo, J., Huber, D.J., Dong, X., Han, Y., Zhang, Z., & Rao, J. (2014). Effect of hot water treatments on chilling injury and expression of a new C-repeat binding factor (CBF) in 'Hongyang' kiwifruit during low temperature storage. *Postharvest Biology and Technology, 97*, 102–110. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.05.018
39. Manganaris, G.A., Vasilakakis, M., Diamantidis, G., & Mignani, I. (2007). The effect of postharvest calcium application on tissue calcium concentration, quality attributes incidence of flesh browning and cell wall physicochemical aspects of peach fruits. *Food Chemistry*, *100*(4), 1385–1392. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.036
40. Marangoni, A.G., Palma, T., & Stanley, D.W. (1996). Membrane effects in postharvest physiology. *Postharvest Biology and Technology*, *7*(3), 193–217. https://doi.org/10.1016/0925-5214(95)00042-9
41. Marschner, H. (1995). Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd ed., Academic Press., Harcourt-Brace Pub. Company. *Institute of Plant Nutrition University of Hohenheim: Germany*.
42. Meyers, K.J., Watkins, C.B., Pritts, M.P., & Liu, R.H. (2003). Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*, 6887-6892. https://doi.org/10.1021/jf034506n
43. Mirdehghan, H., & Rahmi, M. (2010). Determination of the time of frost damage of pomegranate fruit (*Punica granatum*) during cold storage. *Iranian Journal of Horticultural Sciences*. (In Persian with English abstract)
44. Mirdehghan, S.H., Rahemi, M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Valverde, J.M., Zapata, P.J., Serrano, M., & Valero. D. (2007). Reduction of pomegranate chilling injury during storage after heat treatment: role of polyamines. *Postharvest Biology and Technology*, *44*(1), 19–25. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.11.001
45. Mirdehghan, S.H., Rahemi, M., Serrano, M., Guillén, F., Martínez-Romero, D., & Valero, D. (2006). Prestorage heat treatment to maintain nutritive and functional properties during postharvest cold storage of pomegranate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54*(22), 8495–8500. https://doi.org/10.1021/jf0615146
46. Mortazavi, N., Naderi, R., Khalighi, A., Babalar, M., & Allizadeh, H. (2007). The effect of cytokinin and calcium on cut flower quality in rose (*Rosa hybrida* L.) cv. Illona. *Journal of Food, Agriculture & Environment, 5*, 311-313.
47. Njombolwana, N.S., Erasmus, A., Van Zyl, J.G., Du Plooy, W., Cronje, P.J., & Fourie, P.H. (2013). Effects of citrus wax coating and brush type on imazalil residue loading, green mould control and fruit quality retention of sweet oranges. *Postharvest Biology and Technology, 86*, 362-371. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.07.017
48. Oz, A.T., & Ulukanli, Z. (2013). The effects of calcium chloride and 1-methylcyclopropene (1-MCP) on the shelf life of mulberries (*Morus alba* L.). *Journal of Food Processing and Preservation*, *38*(3), 1279-1288. http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.12089
49. Path manaban, G., Nagarajan, M., Manian, K., & Annamalainthan, K. (1995). Effect of fused calcium salts on postharvest preservation in fruits. *Madras Agricultural Journal*, *82*, 47–50. https://doi.org/10.29321/MAJ.10.A01123
50. Penel, C., Cutsem, P., & Greppin, H. (1999). Interactions of a Plant Peroxidase with Oligogalacturonides in the Presence of Calcium Ions. *Phytochemistry*, *51*, 193-198. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00741-9
51. Rabiei, A., & Rahmani, S. (2013). Effect of salicylic acid, calcium chloride and hot water treatment on quantitative, qualitative and storage parameters of Mikhush pomegranate. *Journal of Horticultural Sciences (Agricultural Sciences and Industries), 28*(1), 11-15. (In Persian with English abstract)
52. Rahman, M.M.U., Sajid, M., Abdur, R., Shahzad, A., Owais Shahid, M., Alam, A., Israr, M., & Irshad, A. (2016). Impact of calcium chloride concentrations and storage duration on quality attributes of peach (*Prunus persica*). *Russian Agricultural Sciences, 42*(2), 130–136. https://doi.org/10.3103/S1068367416020099
53. Ramezanian, A., & Rahemi, M. (2011). Chilling resistance in pomegranate fruits with spermidine and calcium chloride treatments. *International Journal of Fruit Science, 11*(3), 276-285. https://doi.org/10.1080/15538362.2011.608299
54. Ramezanian, A., Rahemia, M., & Vazifehshenas, M.R. (2009). Effects of foliar application of calcium chloride and urea on quantitative and qualitative characteristics of pomegranate Fruits. *Scientia Horticulturae, 121*, 171-175. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.01.039
55. Ramezanian, A., Dadgar, R., & Habibi, F. (2018). Postharvest attributes of 'Washington Navel' orange as affected by preharvest foliar application of calcium chloride, potassium chloride, and salicylic acid. *International Journal of Fruit Science, 18*(1), 68-84. https://doi.org/10.1080/15538362.2017.1377669
56. Ramezanian, A., Rahemi, M., Maftoun, M., Bahman, K., Eshghi, S., Safizadeh, M.R., & Tavallali, V. (2010). The ameliorative effects of spermidine and calcium chlo-ride on chilling injury in pomegranate fruits after long-term storage. *Fruits*, *65*, 169–178. https://doi.org/10.1051/fruits/2010011
57. Ranadive, A.S., & Haard, N.F. (1972). Peroxidase localization and lignin formation in developing pear fruit. *Journal of Food Science*, *37*, 381-383. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1972.tb02643.x

58. Ranjbar, S., Rahemi, M., & Ramezanian, A. (2018). Comparison of nano-calcium and calcium chloride spray on postharvest quality and cell wall enzymes activity in apple cv. Red Delicious. *Scientia Horticulturae, 240*, 57-64. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.05.035
59. Ranjbar, S., Ramezanian, A., & Rahemi, M. (2020). Nano-calcium and its potential to improve 'Red Delicious' apple fruit characteristics. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, *61*(1), 23-30. https://doi.org/10.1007/s13580-019-00168-y
60. Rapisarda, P., Bianco, M.L., Pannuzzo, P., & Timpanaro, N. (2008). Effect of cold storage on vitamin C, phenolics and antioxidant activity of five orange genotypes [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. *Postharvest Biology Technology*, *49*(3), 348-354.
61. Rivera-López, J., Vázquez-Ortiz, F.A., Ayala-Zavala, J.F., Sotelo-Mundo, R.R., & González-Aguilar, G.A., (2005). Cutting shape and storage temperature affect overall quality of fresh-cut papaya cv.'Maradol'. *Journal of Food Science, 70*(7). https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb11496.x
62. Sapitnitskaya, M., Maul, P., McCollum, G.T., Guy, C.L., Weiss, B., Samach, A., & Porat, R. (2006). Postharvest heat and conditioning treatments activate different molecular responses and reduce chilling injuries in grapefruit. *Journal of Experimental Botany*, *57*(12), 2943–2953. https://doi.org/10.1093/jxb/erl055
63. Schirra, M., Mulas, M., Fadda, A., & Cauli, E. (2004).Cold quarantine responses of blood oranges to postharvest hot water and hot air treatments. *Postharvest Biology and Technology, 31*, 191-200. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.09.002
64. Shafiee, M., Taghavi, T.S., & Babala, M.R. (2010). Addition of salicylic acid to nutrient solution combined with postharvest Treatments (hot water, salicylic acid, and calcium dipping) improved Postharvest fruit quality of strawberry. *Scientia Horticulturae, 124*, 40-45. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.12.004
65. Sidhi, P., Krishan, G., Archna, A., Navjot, S., & Harkirat, S. (2010). Non-syndromic concomitant hypohyperdontia in a family-a rare case report.
66. Spinardi, A.M. (2005). *Effect of harvest date and storage on antioxidant system in pears.* Acta Hortic, V International Postharvest Symposium, 682, 135-140. https://doi. 10.17660/ActaHortic.2005.682.11
67. Supanjani, T.A.R.M., Yang, M.S., Han, H.S., & Lee, K.D. (2005). Calcium effects on yield, mineral uptake and terpene components of hydroponic *Chrysanthemum coronarium* L. *International Journal of Botany*, *1*, 146-151.
68. Taghipour, L., Rahmi, M., & Assar, P. (2019). Reducing frost damage and increasing the storage life of Rabab Niriz pomegranate fruit by applying heat pretreatment. *Journal of Horticultural Sciences and Techniques of Iran, 21*(2): 183-194. (In Persian with English abstract)
69. Thiruvenga dam, M., Rajakumar, G., & Chung, I.M. (2018). Nanotechnology: current uses and future applications in the food industry. *Biotechnology, 8*(74), 2-13. https://doi.org/10.1007/s13205-018-1104-7
70. Topuz, M., Topakci, M., Canakci, I., Akinci, A., & Ozdemir, F. (2005). Physical and nutritional properties of four orange varieties, *Journal of Food Engineering*, *66*(4), 519-523. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.04.024
71. Torres, E., Recasens, I., Lordan, J., & Alegre, S. (2017). Combination of strategies to supply calcium and reduce bitter pit in 'Golden Delicious' apples. *Scientia Horticulturae, 217*, 179–188. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.01.028
72. Valero, D., Perez-Vicente, A., Martinez-Romero, D., Castillo, S., Guillen, F., & Serrano, M. (2002). Plum storability improved after Calcium and heat postharvest treatments: role of polyamnis. *Journal of Food Science, 67*, 2571-2575. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08778.x
73. Varasteh, F., Arzani, K., Barzegar, M., & Zamani, Z. (2012). Changes in anthocyanins in arils of chitosan-coated pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Rabbab-e-Neyriz) fruit during cold storage. *Food Chemistry*, *130*(2), 267-272. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.031
74. Veltman, R.H., Kho, R.M., VanSchaik, A.C.R., Sanders, M.G., & Osterhaven, J. (2000). Ascorbic acid and tissue browning in pears (*Pyrus communis* L. cvs Rocha and Conference) under controlled atmosphere conditions. *Postharvest Biology and Technology*, *19*, 129-137. https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00095-8
75. Wang, H., Zhang, Z., Xu, L., Huang, X., & Pang, X. (2012). The effect of delay between heat treatment and cold storage on alleviation of chilling injury in banana fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *92*(13), 2624–2629. https://doi.org/10.1002/jsfa.5676
76. Wang, L., Chen, S., Kong, W., Li, S., & Archbold, D.D. (2006). Salicylic acid pretreatment alleviates chilling injury and affects the antioxidant system and heat shock proteins of peaches during cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, *41*, 244-251. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.04.010
77. Wang, Y., Luo, Z., Huang, X., Yang, K., Gao, S., & Du, R. (2014). Effect of exogenous γ-aminobutyric acid (GABA) treatment on chilling injury and antioxidant capacity in banana peel. *Scientia Horticulturae, 168*, 132-137. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.01.022
78. Yousefpour, A.Y., Aghdam, M.S., Fard, J.R., & Hassanpour, H. (2013). Postharvest salicylic acid treatment enhances antioxidant potential of cornelian cherry fruit. *Scientia Horticulturae, 154,* 31-36. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.01.025
79. Yun, Z., Gao, H., Liu, P., Liu, S., Luo, T., Jin, S., ... & Deng, X. (2013). Comparative proteomic and metabolomic

profiling of citrus fruit with enhancement of disease resistance by postharvest heat treatment. *BMC Plant Biology*, *13*(1), 1-16. https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-44
80. Zagzog, O.A., & Gad, M.M. (2017). Improving growth, flowering, fruiting and resistance of malformation of Mango trees using Nano-Zinc. *Middle East Journal of Agriculture Research*, *06*, 673-681.
81. Zeng, K., Deng, Y., Ming, J., & Deng, L. (2010). Induction of disease resistance and ROS metabolism in navel oranges by chitosan. *Scientia Horticulturae*, *126*(2), 223-228. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.07.017
82. Zou, Z. W.P., Xi, Y., Hu, C., Nie, H., & Zhou, Z.Q. (2016). Antioxidant activity of citrus fruits, *Food Chemistry*, *196*, 885-896. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.072